

Aus dem Zentrum für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

**Die Antiplasminaktivität
menschlicher Blutplättchen
bei normaler und pathologischer Gestation**

Inaugural-Dissertation
zur

Erlangung des Doktorgrades des Bereichs
Humanmedizin der Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von
Bernd-Michael Heiny
aus Naumburg/Saale

Gießen 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545932_0038

Aus dem Zentrum für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

**Die Antiplasminaktivität
menschlicher Blutplättchen
bei normaler und pathologischer Gestation**

Inaugural-Dissertation
zur

Erlangung des Doktorgrades des Bereichs
Humanmedizin der Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von
Bernd-Michael Heiny
aus Naumburg/Saale

Gießen 1973



Dekan: Prof. Dr. Hj. Staudinger

1. Berichterstatter: Prof.Dr. L. Roka
2. Berichterstatter: Doz. Dr. H. Eimer

Übersicht

1.0.0 Einleitung

1.1.0 Die Fibrinolyse im Rahmen der Blutgerinnung

1.2.0 Der Ablauf der Fibrinolyse

1.3.0 Die Inhibitoren der Fibrinolyse

1.3.1 Das Vorkommen von Inhibitorsystemen

1.3.2 Die Eigenschaften der Fibrinolyseinhibitoren

1.3.3 Das Verhalten der Fibrinolyseinhibitoren des Menschen bei verschiedenen Erkrankungen

1.4.0 Die Antiplasminaktivität der menschlichen Blutplättchen

1.4.1 Die haemostaseologisch wirksamen Faktoren der menschlichen Blutplättchen

2.0.0 Fragestellung

3.0.0 Material

3.1.0 Die untersuchten Kollektive

3.2.0 Das untersuchte Material

4.0.0 Die Methode

4.1.0 Das methodische Prinzip

4.2.0 Die Reagentien

4.3.0 Die Aufbereitung der Plättchen

- 4.4.0 Die Bestimmung der Thrombocytenantiplasmin-
aktivität
- 4.4.1 Der Testansatz
- 4.4.2 Die Standardkurve
- 5.0.0 Die Ergebnisse
- 6.0.0 Die statistische Bearbeitung der
Untersuchungsergebnisse
- 7.0.0 Diskussion
- 7.1.0 Die Diskussion der Methode
- 7.2.0 Die Diskussion der Ergebnisse
- 8.0.0 Zusammenfassung
- 9.0.0 Literatur

1.1.0

Hämostase und Fibrinolyse gehören zu den am besten bekannten fermentativen Proteolysen, zumal ihnen auch klinisch eine große Bedeutung zukommt.

Die beiden Phänomene der Fibrinbildung und des Fibrinabbaues sind in vivo miteinander gekoppelt. Sie laufen nebeneinander ab und stehen unter physiologischen Gegebenheiten in einem gleichgewichtigen Verhältnis.

1.2.0

Das bei der Gerinnung entstehende Fibrin wird durch das Fibrinolysesystem des Organismus abgebaut. Diesen Vorgang bewirkt ein spezifisches, proteolytisches Ferment, das Plasmin. Es spaltet Fibrin in Polypeptide und niedermolekulare Bruchstücke (41).

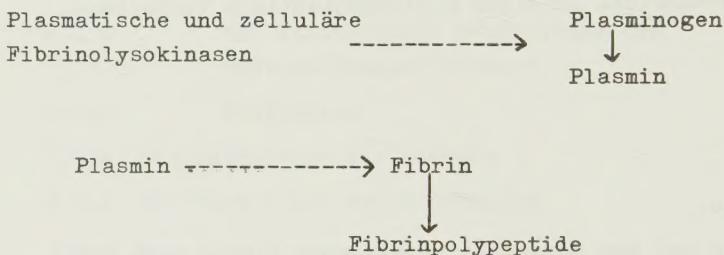
Das Plasmin ist in einer inaktiven Vorstufe, dem Plasminogen, im Blutplasma enthalten.

Die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin geschieht durch eine plasmatische oder durch eine bei Zellläsion freiwerdende zelluläre Fibrinolysokinase. Diese Fibrinolysokinasen wirken als Proteasen und spalten von dem Plasminogenmakromolekül einen lipoidhaltigen Hemmkörper ab.

Die Fibrinolysokinasen werden wiederum aus inaktiven Vorstufen, den Profibrinolysokinasen, durch Vermittlung der Lysokinasen gebildet. Diese Lysokinasen sind ebenfalls Proteasen, die Profibrinolysokinase in Fibrinolysokinase und Aminosäuren spalten. Sie sind also Aktivatorsubstanzen, welche die plasmatische Profibrinolysokinase zur Plasmafibrinolysokinase umwandeln.

Diese Lysokinasen werden bei Gewebealterationen freigesetzt. Ebenso kann bei Gewebeläsion direkt eine zelluläre, aktive Fibrinolysekinase freigesetzt werden.

Das folgende Schema faßt diese Abläufe zusammen:



Diese Fibrinpolypeptide können dann von Peptidasen abgebaut werden.

(Anm.: ----- = katalysiert;
 _____ = Umwandlung von ____ zu)

1.3. Die Inhibitoren der Fibrinolyse

Die Inaktivierung des Plasmin geschieht, wie bei der Gerinnung, durch eine Reihe von Inhibitorsubstanzen.

1.3.1

Mehrere intensiv wirkende Inhibitorsysteme schützen den Organismus vor unzweckmäßigen Proteolysen. Diese Systeme neutralisieren das normalerweise im Blut kreisende aktive Plasmin.

1.3.1.1

Der größte Teil der Antiplasmin-aktivität des menschlichen Blutes wird in der Albuminfraktion des Plasma gefunden. (1) Dieses Antiplasmin entfaltet seine Wirkung in 30-60 Minuten, ist thermo- und chemolabil und wirkt sehr intensiv.

Auch die Globuline weisen eine gewisse Antiplasminwirkung auf (2). Das Globulin-antiplasmin entfaltet seine Wirkung ebenfalls erst nach 30 Minuten, ist jedoch thermo- und chemostabil und wirkt weniger intensiv als das Albuminantiplasmin. SHERRY und ALKJÄRSIG (3) nehmen an, daß es sich um einen einzigen Inhibitor handelt, und zwar um ein Globulin, welches mit dem Albumin ausfällt.

1.3.1.2

Neben den Plasma-antiplasminen wurde ein weiteres Antiplasmin gefunden, welches sich an oder in den menschlichen Blutplättchen befindet (4). Es unterscheidet sich vom Plasmaantiplasmin durch seine sofortige Wirkung (5).

1.3.1.3

Außer im Plasma wurden in den verschiedenen Körperflüssigkeiten Plasmininhibitoren entdeckt (6,7). Auch im Urin ist ein hochwirksamer Plasmin-Trypsin-inhibitor vorhanden (8). Dieser zeigt im Gegensatz

zu den anderen Plasminhemmern auch eine Anti-thrombinwirkung (9).

Ein besonders wirksames Antiplasmin konnte aus dem Pankreas isoliert werden (10, 11, 12).

1.3.1.4

Fibrinolyseinhibitoren werden nicht nur beim Menschen (Plasma, Thrombocyten, in fast allen Gewebezellen, im Urin, in serösen Exsudaten z.B.), sondern auch im Plasma und Gewebe vieler Tiere gefunden (13). Ferner sind Proteaseinhibitoren in vielen eiweißhaltigen Pflanzengeweben vorhanden, besonders reichlich in Soya-, Lima-, und Navybohnen, in Erdnüssen und Kichererbsen.

Neben den vielen Antiplasminen kommen auch Antifibrinolysekinasen vor, die sowohl Antifibrinolysekinase- als auch Antiplasminwirkung haben.

1.3.1.5

Außer den natürlich vorkommenden Proteaseinhibitoren stehen auch synthetische Substanzen mit einer antifibrinolytischen Wirkung zur Verfügung. Entsprechend der chemischen Struktur werden zwei Gruppen unterteilt:

1. aliphatische Aminosäureverbindungen
2. zyklische Aminocarbonsäureverbindungen, wobei die Trans-4-amino-methyl-benzoesäure und Para-amino-methyl-benzoesäure zu den wirksamsten zählen. (51)

1.3.2

Abbildung 2 gibt eine Zusammenstellung der Eigenschaften der wichtigsten biologischen Proteaseinhibitoren.

	Albumin-	Globulin-	Thrombo- cyten	Limabohnen-	Pankreas-
	antiplasmin				
Volle Aktivierung	nach 30-60 min.	nach 30-60 min.	sofort	sofort	sofort
Inaktivierung bei 37° C	1-2 Tage	2-4 Tage	nicht bekannt	4 Tage	1-2 Tage
Substrat-Spezifität	Plasmin (Trypsin)	Plasmin (Trypsin)	Plasmin	Plasmin Trypsin	Plasmin

Die Eigenschaften der Plasma- antiplasmine sind weitgehend bekannt, so daß eine Abtrennung vom Thrombocyten-antiplasmin möglich ist.

1.3.3

Das Vorkommen der Fibrinolyse-inhibitoren ist vor allen Dingen in Plasma, in den Geweben und in oder an den Thrombocyten beschrieben worden. GUEST, DAILY, WARE und SEEGER (15), LOOMIS, RYDER und GEORGE (36) haben Antiplasmineinheiten beschrieben. Die Konzentration im Blut beträgt 80 E/ml nach GUEST, WARE und SEEGER. Sie ist vermehrt oder vermindert bei verschiedenen Erkrankungen: (13, 14)

Antiplasmingehalt vermehrt bei

Lymphogranulom, Pneumonie, Ileus, Anaemie, Koronarthrombose, Endocarditis (15); Leukämie (22); Tuberkulose (23); Lues (16); Karzinom (24, 25, 23)

Antiplasmingehalt vermindert bei

zweite Hälfte der Schwangerschaft und Geburt (ELSNER) (17), nach Operationen (26), nach Röntgenbestrahlung (18),

bei Gestosen (17), bei Lebererkrankungen (19, 20, 21). Die Vermehrung oder Verminderung des Plasma-antiplasmin soll bei allen erwähnten Krankheitsbildern vorwiegend auf Grund vegetativer Steuerung erfolgen.

1.4.o

Die Antiplasminaktivität der menschlichen

Blutplättchen

Die Thrombocyten tragen eine Vielzahl von Wirkstoffen, die vor allem an der Blutgerinnung, an der Fibrinolyse und an der Vasomotorik beteiligt sind. Einige dieser Wirkstoffe dürften endogene Faktoren sein, andere wieder aus dem Plasma adsorbiert.

Es kann auf eine umfangreiche Literatur zu diesem Thema verwiesen werden, wobei ausführliche Zusammenstellungen vor allem bei H. STAMM (15) vorliegen.

Einen wesentlichen Anteil haben die Plättchen auch an der intravitalen Fibrinolyse. Schon 1953 haben JOHNSON und SCHEIDER aus Plättchenanreicherungen durch Einfrieren und anschließendes Auftauen ein Antiplasmin gewonnen, das ca. 70 % der plasmatischen Antiplasminaktivität ausmacht (4). 1956 weisen SHERRY und ALKJAERSIG darauf hin, daß sich das Thrombocyten-antiplasmin vom Plasma-antiplasmin durch seine sofortige Aktivität unterscheidet (5).

Ebenfalls 1957 hat BIERSTEDT (33) mit Thrombocyten, die fibrinolytisch aktivem Leichenblut entnommen wurden, eine Beschleunigung der Gesamtfibrinolysezeit sowie der Fibrinverfestigungs- und Zerfallszeit erreichen können. Thrombocyten aus nicht aktivem Normalplasma übten im Gegensatz dazu eine Hemmwirkung auf die Fibrinolyse aus.

Die Blutplättchen tragen demnach sowohl hemmende als auch fördernde Faktoren.

ELSNER wies 1957 (17) die Beziehungen des Plasmaantiplasmin zu Schwangerschaft, Geburt und Gestose nach. Über die Beziehungen des Thrombocyten-antiplasmin zu Schwangerschaft, Geburt und Gestose war bisher jedoch noch nichts bekannt.

1959 gelang FISCHER und LANDBECK eine besonders schonende Isolierung intakter Blutplättchen (37, 38).

Somit war eine wichtige Voraussetzung für Gerinnungsphysiologische Untersuchungen, insbesondere der Untersuchung des Thrombocyten-antiplasmin, gegeben.

MORIAU et al. geben eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Plättchenantiplasmin an (39).

Mit den Methoden zur Plättchenisolierung, zur Bestimmung des Thrombocytenantiplasmin sind die Bedingungen für eine quantitative Analyse des Thrombocyten-antiplasmin gegeben. GROSS und HOLEMANS; de VRIES et. al. haben Hinweise auf die Qualität des Plättchenantiplasmin gegeben (40, 34). Dennoch steht noch nicht entscheidbar fest, ob es sich bei dem Plättchenantiplasmin um einen "endogenen" Faktor oder um ein adsorbiertes, plasmatisches Antiplasmin handelt.

2.0.0 Fragestellung

Systematische Studien über das Verhalten der thrombocytären Antiplasminaktivität während generativer Vorgänge lagen somit bislang nicht vor.

Demnach sind folgende Untersuchungen zunächst und vor-
dringlich von Interesse:

2.1.0 Die Aktivität des Thrombocytenantiplasmin
im Verlaufe der Schwangerschaft im Ver-
gleich zu einer Kontrollgruppe gesunder,
nicht gravider Frauen

2.2.0 Das Verhalten der Thrombocytenantiplasmin-
aktivitäten im frühen Wochenbett

2.3.0 Aktivität des Plättchenantiplasmin und
häufigste Schwangerschaftskomplikation,
die EPH-gestose

Es gibt Hinweise dafür, daß hormonelle Einflüsse die
Aktivität des Plasmaantiplasmin verändern (43). Somit
liegt die Frage nahe, ob ebenso hormonelle Einflüsse
die thrombocytäre Antiplasminaktivität beeinflussen.

2.4.0 Ovulationshemmer und Plättchenantiplasmin-
aktivität

2.5.0 Plättchenfaktor (Thrombocytenantiplasmin)
nur ein aus dem Plasma adsorbiertes Anti-
plasmin oder eigenständiger "endogener"
Thrombocytenfaktor

3.0.0 Material

Zur Beantwortung der in der Fragestellung aufgezählten Punkte wurden folgende Kollektive gebildet:

3.1.0 Kollektive

- 3.1.1 Als Kontrollgruppe eine Anzahl von 30 nicht graviden, gesunden Frauen zwischen 20 und 30 Jahren
- 3.1.2 20 Patientinnen im ersten Schwangerschaftstrimenon
- 3.1.3 20 Patientinnen im zweiten Schwangerschaftstrimenon
- 3.1.4 35 Patientinnen im dritten Schwangerschaftstrimenon
 - 1. Untersuchung am Tag der Entbindung
 - 2. Untersuchung zwei Tage nach der Entbindung
- 3.1.5 30 Patientinnen im dritten Schwangerschaftstrimenon, die an einer EPH-gestose erkrankt waren
- 3.1.6 20 Frauen im Alter zwischen 20 und 30 Jahren, die regelmäßig Ovulationshemmer einnahmen, und zwar mindestens seit einem viertel Jahr vor Aufnahme in das untersuchte Kollektiv

Bei den Ovulationshemmern handelte es sich um die Präparate ACONCEN und EUGYNON. Das Präparat ACONCEN ist nicht mehr im Handel. Es handelt sich bei beiden Präparaten um Kombinationspräparate mit gleicher östrogener Potenz bei unterschiedlicher gestagener Potenz. Die gestagene Potenz des Präparates Aconcen

ist deutlich stärker als die des Präparates EUGYNON (44).

- 3.2.0 Von diesen Patienten werden je dreimal neun Kubikzentimeter Kubitalvenenblut entnommen zur getrennten Bestimmung der
1. Antiplasminaktivität der nach beschriebener Methode aufbereiteten ungewaschenen Thrombocyten
 2. Antiplasminaktivität der gewaschenen Thrombocyten
 3. Antiplasminaktivität der lysierten Thrombocyten

4.0.0 Methode

4.1.0 Das methodische Prinzip

Es wird die totale Lysezeit eines aus gereinigtem Rinderfibrinogen und Thrombin hergestellten Gerinnsels gemessen.

Zum Nachweis der Antiplasminwirkung einer Testlösung wird ein geeichtes und standardisiertes Substrat (Plasmin) mit dem gleichen Volumen Testlösung (Thrombocytensuspension) versetzt und die Restaktivität des Substrates gemessen, nachdem es zehn Minuten der Antiplasminwirkung der Testlösung ausgesetzt wurde. Zur Bestimmung der Restaktivität muß zuerst die Ausgangsaktivität des Substrates (Lysezeit) bekannt sein. Diese beträgt 100%. Es wird eine Verdünnungsreihe erstellt und eine Standardkurve angefertigt. Die Restaktivität wird an der Standardkurve in Prozent der Norm abgelesen.

4.2.0 Reagentien

Fibrinogen vom Rind 0,6 %	(BEHRING)
Thrombin 60 NIH/ml	(BEHRING)
Plasmin hochgereinigt 5E/ml	(KABI)
physiologische Kochsalzlösung	(MERCK)
Polyvinylpyrrolidon-lsg 25 %	(MERCK)
Tween 80, Titriplex 3, Borax, Borsäure	(MERCK)

4.3.0 Die Aufbereitung der Thrombocyten

4.3.1 Herstellen der Thrombocyten suspension

Um die Thrombocyten von den anderen Blutbestandteilen zu trennen und um sie exakt zu isolieren, wird das folgende von HITZIG entwickelte und von FISCHER und LANDBECK erweiterte Verfahren angewendet:

Neun Kubikzentimeter Kubitalvenenblut werden nach Punktion mit einer nicht zu kleinen, innen polierten Kanüle in ein silikonisiertes Zentrifugenröhrchen gebracht, in dem sich ein Kubikzentimeter folgender Lösung befindet: 70 ccm physiologische Kochsalzlösung; 24 ccm Polivinylpyrrolidonlösung; 2 ccm Tween 80; 5 gr Titriplex III. Nach vorsichtigem Durchmischen des Blutes mit dieser Lösung wird das Röhrchen in einem Winkel von 60 Grad mindestens zwei Stunden in den Kühlschrank (4 Grad Celsius) gestellt. Mit einer silikonisierten Pipette wird dann das thrombocytenhaltige Plasma abgehoben und sechs Minuten mit 1000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Nach nochmaliger Abtrennung des Plasma von möglicherweise sedimentierten Erythrocyten wird 15 Minuten mit 3000-4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Nach Abgießen des jetzt thrombocytenfreien Plasma werden die sedimentierten Thrombocyten in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt (37, 38).

4.3.2 Der Waschvorgang

Die Waschung der Thrombocyten wird mit der folgenden Lösung durchgeführt:

5 ccm Tween 80; 100 ccm Borax-Borsäurepuffer (85 ccm 0,2 m Borsäure und 15 ccm 0,05 m Borax)

400 ccm physiologische Kochsalzlösung.

Der Waschvorgang wird dreimal wiederholt. Nach dem letzten Waschen und Entfernen der Waschlösung werden die Thrombocyten in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. (48)

Die Thrombocytenkonzentration wird mit Hilfe des Mikroskopes auf ca. 200 000/ccm eingestellt.

4.3.3 Die Lysierung der Thrombocyten

Die Thrombocyten werden mechanisch zerquetscht, eingefroren und subsequent aufgetaut (4).

Dabei wurde das von JOHNSON, SCHNEIDER (4), SCHULZ und HIEPLER (49) angegebene Verfahren angewendet, welches diese bei ihren Untersuchungen über die Lokalisierung der gerinnungsphysiologischen Aktivität in submikroskopischen Strukturen der Thrombocyten angaben.

4.4.0 Die Bestimmung der Thrombocytenantiplasminaktivität

4.4.1 Der Testansatz

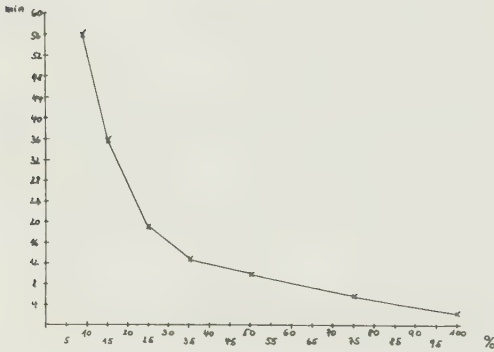
Die Antiplasminaktivität der Blutplättchen wird folgendermaßen bestimmt:

0,2 ml Plasmin (5E/ml) und 0,2 ml Thrombocyten-suspension werden im Wasserbad bei 37 Grad Celsius zehn Minuten inkubiert. Dann wird 0,4 ml 0,6 %ige Fibrinogenlösung und sofort 0,2 ml Thrombin (60 NIH/ml) hinzugegeben. (29)

In allen Fällen formte sich innerhalb von 10 bis 20 Sekunden ein homogenes Fibringerinnsel.

Nun wird die Total-lysezeit bestimmt. (Ablesen mit der Stoppuhr). Anhand der vorher aufgestellten Standardkurve kann jetzt die Plasminrestaktivität in Prozent der Norm bestimmt werden.

Standardkurve



5.0.0 Ergebnisse
=====

Werte in Prozent Restplasminaktivität

- a. = Werte der ungewaschenen Thrombocyten
- b. = Werte der gewaschenen Thrombocyten
- c. = Werte bei zerquetschten, eingefrorenen und
subsequent aufgetauten Thrombocyten

Normalpersonen

a. 25, 27, 28, 28, 27, 29, 30, 32, 27, 27
28, 29, 29, 27, 26, 29, 28, 27, 27, 29, 28
29, 29, 28, 27, 27, 28, 28, 26, 29, 29, 28

b. 26, 28, 27, 29, 29, 28, 28, 29, 28, 27
29, 28, 28, 28, 27, 28, 29, 29, 27, 28
28, 28, 27, 29, 28, 28, 27, 27, 29, 28, 28

c. 23, 25, 25, 26, 27, 26, 24, 24, 24, 25
25, 24, 26, 25, 24, 24, 24, 25, 26, 27, 25
26, 26, 24, 25, 24, 25, 26, 24, 24, 25

Schwangere (1. Trimester)

a. 26, 28, 31, 28, 26, 27, 29, 28, 28, 29, 26
29, 28, 28, 27, 28, 29, 26, 29, 28

b. 26, 27, 28, 28, 28, 28, 29, 29, 28, 29, 28
27, 28, 28, 29, 26, 30, 31, 28, 26, 29, 27

c. 23, 24, 26, 26, 25, 25, 26, 27, 24, 24
24, 24, 25, 26, 26, 24, 28, 25, 24, 24

Schwangere (2. Trimester)

- a. 27, 29, 31, 32, 35, 30, 31, 31, 30, 32, 30
31, 31, 32, 32, 29, 32, 31, 30, 30,
- b. 28, 29, 31, 31, 30, 34, 30, 28, 29, 30
29, 32, 32, 30, 30, 29, 28, 29, 30, 29
- c. 24, 29, 27, 27, 26, 29, 29, 27, 26, 26, 27
26, 27, 28, 26, 29, 26, 26, 27, 27, 27

Schwangere (3. Trimester)

(1 die ante partum)

- a. 39, 39, 41, 40, 41, 44, 41, 35, 39, 41
39, 38, 40, 40, 42, 41, 38, 41, 40, 41
40, 39, 41, 42, 38, 40, 41, 39, 40, 40
42, 37, 39, 41, 41
- b. 39, 40, 40, 41, 40, 44, 41, 35, 39, 41
38, 38, 41, 40, 42, 41, 38, 41, 39, 41
40, 39, 41, 42, 39, 41, 41, 39, 40, 40
42, 38, 40, 40, 39
- c. 37, 38, 38, 40, 39, 34, 35, 36, 37, 36
37, 38, 38, 36, 35, 38, 37, 37, 36, 38
39, 38, 36, 36, 37, 37, 35, 38, 38, 36
37, 35, 39, 37, 38

Schwangere (3. Trimester)

(2 dies post partum)

- a. 28, 27, 30, 30, 31, 28, 29, 32, 30, 26
28, 29, 27, 27, 30, 31, 30, 29, 28, 30
29, 28, 27, 29, 30, 29, 30, 31, 28, 28
29, 28, 30, 31, 27

b. 29, 28, 29, 29, 30, 28, 29, 32, 30, 27
27, 29, 27, 28, 30, 31, 30, 28, 29, 30
29, 28, 28, 29, 30, 29, 30, 30, 29, 28
29, 28, 30, 31, 27

c. 22, 28, 25, 24, 21, 27, 26, 25, 25, 24
23, 26, 24, 24, 25, 26, 26, 23, 24, 26
24, 25, 25, 24, 27, 26, 24, 26, 25, 24
24, 25, 25, 27, 23

Patientinnen mit einer EPH-gestose

a. 37, 38, 44, 44, 42, 41, 41, 42, 40, 41
39, 40, 42, 42, 41, 42, 41, 40, 42, 39
39, 43, 42, 40, 36, 44, 42, 41, 42, 41

b. 36, 39, 44, 43, 43, 41, 41, 42, 40, 41
39, 40, 42, 42, 41, 42, 41, 40, 42, 39
39, 43, 42, 40, 37, 43, 42, 41, 42, 41

c. 32, 38, 38, 39, 40, 36, 36, 37, 38, 39
35, 36, 38, 38, 35, 37, 36, 36, 39, 37
37, 38, 39, 35, 36, 37, 36, 39, 36, 37

" Pille - " patientinnen

a. 27, 30, 30, 28, 31, 31, 32, 30, 31, 31
30, 29, 31, 30, 29, 29, 28, 31, 30, 30

b. 28, 30, 29, 28, 30, 32, 32, 30, 31, 31
30, 29, 31, 32, 30, 29, 28, 31, 31, 31

c. 28, 29, 26, 26, 25, 26, 28, 27, 27
27, 27, 28, 26, 26, 29, 27, 27, 26

6.0.0 Statistische Bearbeitung

Biostatistische Berechnungen

1. Ziel der Bearbeitung:

1.1 Charakterisierung der Kollektive durch Kenngrößen

1.2 Schätzen des methodischen Fehlers (Versuchsfehler)

1.3 Vergleiche zwischen den Kollektiven

2. Verfahren:

2.1 Kenngrößen (sogenannte Parameter)

2.1.1 arithmetisches Mittel ($\bar{x}$) nach der Formel

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

worin x die Größe der Stichprobenwerte
und n ihre Anzahl symbolisiert.

2.1.2 als Maß der Streuung die Varianz(s^2)

gemäß der Formel

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

wobei der positive Wert der Wurzel aus der Varianz
als Standardabweichung (Streuung) bezeichnet wird.

2.1.3 Gelegentlich wird der sogenannte Variabilitätskoeffizient c (nach Pearson) angeführt, der sich aus der Beziehung

$$v = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad \text{ergibt.}$$

2.2.0 Eine Abschätzung des "Methodenfehlers" ist bereits durch die Streuungsmasse gegeben. Eine weitere Stellungnahme erfolgt im Rahmen der Varianzanalyse, auf die an gegebener Stelle eingegangen wird.

2.3.0 Vergleiche

2.3.1 Da es sich entsprechend der Fragestellung durchweg um Vergleiche zweier Mittelwerte handelt, wird hierzu der sogenannte t-Test herangezogen. Die Voraussetzungen (unabhängige Stichproben, keine paarweise Zuordnung der Werte, keine erheblichen Differenzen der Streuungen, hinreichend große Kollektive und Abhängigkeit der Stichproben von nur einem Faktor) für die Anwendung des t-Testes sind erfüllt.

Die Testgröße errechnet sich nach

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S} \sqrt{\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2}}$$

mit $FG = n_1 + n_2$

Die Irrtumswahrscheinlichkeit wird durchweg mit ein Prozent angesetzt, andere Wahrscheinlichkeiten werden im Text aufgeführt. Die t-Teste werden im allgemeinen als einseitige Prüfungen durchgeführt.

Auf die Benutzung multipler Rangteste zum Vergleich mehrerer Mittelwerte nach Art des DUNCAN-testes oder dessen Modifikation nach KRAMER wird wegen der vorgegebenen und dargelegten Fragestellung mit einer Ausnahme verzichtet. Die Rechenvorschrift des Testes nach KRAMER folgt der Beschreibung in dem Lehrbuch von E. WEBER.

2.3.2 Weitere Vergleiche von Stichproben wurden mittels varianzanalytischer Verfahren vorgenommen, wobei sowohl die einfache als auch die zweifache Klassifikation anzuwenden waren. Es handelt sich bei dem Verfahren um Rechenmodelle zur Ermittlung, Schätzung und zum Vergleich von Mittelwerten und Komponenten der Varianz der jeweils zusammengefaßten Stichproben. Rechenvorschriften und Analysengang folgen den einschlägigen Lehrbüchern der biologischen Statistik (z.B. LINDNER; WEBER). Auf ihre Wiedergabe wird verzichtet.

Im Zuge der Varianzanalysen wird weiterhin untersucht, ob die in die jeweiligen Analysen eingehenden Stichprobenvarianzen significant verschieden sind, da sonst die Analyse nicht genommen werden darf. Diese Prüfung erfolgt anhand einer Testgröße, die annähernd nach s^2 verteilt ist. Einzelheiten dieses sogenannten BARTLETT-testes sind u.a. im "Grundriß der biologischen Statistik" von E. WEBER aufgeführt.

2.4. Mit Ausnahme des BARTLETT-testes wurden alle Rechengänge programmiert und vom Tischprogrammrechner WANG 360 berechnet.

3.0.0 Rechengenauigkeit und Abkürzungen

3.1.0 Rechengenauigkeit:

Rechnungen vier bis sechs Dezimalstellen; Angabe der Werte in den folgenden Berichten auf zwei Dezimalen genau. Runden entsprechend den üblichen Vorschriften.

3.2.0 Abkürzungen

- x = Größe der Stichprobenwerte
- n = Anzahl der Stichprobenwerte
- $\bar{x}$ = Mittelwert
- s^2 = Varianz s = Streuung, Standardabweichung
- FG = Freiheitsgrad
- α = Intimswahrscheinlichkeit

Falls erforderlich, folgen weitere Erläuterungen im folgenden Text.

Für die Varianzanalyse müssen folgende Abkürzungen eingeführt werden:

SQ = Summe der Quadrate

MQ = mittleres Quadrat

4.0.0 Ergebnisse

4.1.0 Kenngrößen $\bar{x}$ und s;

Die Angabe der Gruppeneinteilung je nach Aufbereitungsart (a,b,c) bleibt beibehalten.

4.1.1 Kontrollgruppe

Parameter

Gruppe	n	$\bar{x}$	s
a	32	27,97	1,33
b	31	27,97	0,80
c	31	24,94	1,00

Tabelle 1

4.1.2 Frauen unter hormoneller Kontrazeption

Parameter

Gruppe	n	$\bar{x}$	s
a	30	40,93	1,91
b	30	40,87	1,78
c	30	37,00	1,66

Tabelle 2

4.1.3 Schwangere Frauen ohne Graviditäts Komplikation

1. Trimester

Parameter	n	$\bar{x}$	s	v
Gruppe				
a	20	27,90	1,29	4,63
b	22	28,65	1,25	4,45
c	21	25,00	1,26	5,04

2. Trimester

	n	$\bar{x}$	s	v
a	20	30,80	1,61	5,22
b	20	30,00	1,52	5,06
c	21	26,95	1,28	4,75

3. Trimester

a	35	40,00	1,65	4,23
b	35	40,00	1,59	3,99
c	35	37,02	1,36	3,66

Tabelle 3

4.1.4 Gravide mit EPH-gestose (3. Trimester)

a	30	40,93	1,91	4,67
b	30	40,87	1,78	4,35
c	30	37,00	1,66	4,48

Tabelle 4

4.1.5 Entbundene Frauen

a	35	29,0	1,39
b	35	29,0	1,21
c	35	24,8	1,47

Tabelle 5

4. 2 Vergleichende Untersuchungen

4.2.1 Die vergleichende Auswertung untersucht zunächst die Unterschiede, die zwischen den drei Arten der Aufbereitung der zum Testansatz benutzten Thrombocyten zu beobachten sind. Die Differenz der für diesen Vergleich in Frage kommenden Gruppen a, b, c innerhalb des jeweiligen Kollektives sind in der folgenden Übersicht zusammengefaßt.

Gruppe	a	b	c	a-b	a-c	b-c
Kollektiv						
KG	27,97	27,97	24,94	o	3,03	3,03
1. Trim.	27,90	28,05	25,00	-0,15	3,05	2,90
2. Trim.	30,80	30,00	26,95	0,80	3,85	3,05
3. Trim.	40,00	40,00	37,03	o	2,97	2,97
Entbundene	29,00	29,00	24,80	o	4,20	4,20
EPH-pat.	40,93	40,87	37,00	0,06	3,93	3,87
Pille-Gr.	30,00	30,15	26,94	-0,15	3,06	3,21

Tabelle 5

Differenzen in der Restplasminaktivität zwischen den gewaschenen und den ungewaschenen Thrombocyten sind entweder nicht vorhanden oder äußerst gering.

Die gegebenen Unterschiede werden auf Signifikanz mittels t-Test geprüft.

$\Delta (\bar{x}_a - \bar{x}_b)$	FG	$t_{\text{berechn.}}$	$t_{0,01}$	Urteil
27,90 - 28,05	40	0,3610	2,423	nicht significant
30,80 - 30,00	38	1,5740	2,428	nicht significant
30,15 - 30,00	38	0,3493	2,428	nicht significant
40,93 - 40,83	58	0,1368	2,392	nicht significant

Tabelle 7

Für die weitere Methodik ergibt sich hieraus, daß in Berechnungen, die Unterschiede zwischen ungewaschenen und gewaschenen Thrombocyten einerseits und lysierten Thrombocyten andererseits einbeziehen, entweder die Werte für die ungewaschenen oder gleichzeitig die Werte für die gewaschenen Thrombocyten eingehen können.

Prüft man nunmehr die Unterschiede der Mittelwerte zwischen den gewaschenen (b) und den lysierten(c) Thrombocyten, so finden sich folgende Werte:

$\Delta (x_a - x_c)$	FG	$t_{\text{berechn.}}$	$t_{0,01}$	Urteil
27,97 - 24,94	60	13,0153	2,390	significant
28,05 - 25,00	40	7,6678	2,223	significant
30,00 - 26,95	39	6,7717	2,423	significant
40,00 - 37,02	68	8,2773	2,382	significant
29,00 - 24,80	68	12,8260	2,382	significant
40,00 - 37,00	58	8,5645	2,392	significant
30,15 - 26,94	36	7,8799	2,434	significant

Tabelle 8

In sämtlichen Kollektiven ist demnach der Unterschied der Restplasminaktivität zwischen gewaschenen (und ungewaschenen) und lysierten Thrombocyten hoch signifikant.

4.2.2 Beim Vergleich der Werte der Frauen, die regelmäßig Ovulationshemmer einnahmen, fällt einmal ein Unterschied in der Kontrollgruppe auf, weiterhin aber auch, daß die Werte der "Pillengruppe" praktisch gleich denen der Graviden im zweiten Trimenon ist. Diese Mittelwerte werden mit t-Testen geprüft, wobei die Werte bei gewaschenen und den lysierten Thrombocyten benützt werden.

Differenz	FG	$t_{\text{berechn.}}$	$t_{0,01}$	Urteil
$\Delta (\bar{x}_{\text{Kgb}} - \bar{x}_{\text{Pb}})$ 30,15 -27,97	39	7,2570	2,426	significant
$\Delta (\bar{x}_{\text{KGc}} - \bar{x}_{\text{Pc}})$ 26,94 -24,94	47	6,3811	2,410	significant
$\Delta (\bar{x}_{\text{Gb}} - \bar{x}_{\text{Pc}})$	38	0,3257	2,428	nicht significant
$\Delta (\bar{x}_{\text{Gc}} - \bar{x}_{\text{Pc}})$ 26,94 -26,95		Berechnung erübrigt sich		

Tabelle 9

Es sei ohne Wiedergabe der Werte angefügt, daß die entsprechenden Mittelwertsdifferenzen der "Pillengruppe" ebenfalls significant von den korrespondierenden Werten der Schwangeren des ersten Trimenon abweichen.

4.2.3 Die Vergleiche zwischen den Kontrollgruppen und der Schwangerengruppen in den verschiedenen Trimena wird varianzanalytisch in Form einer Zweivegeklassifikation mit zufälligen Effekten vorgenommen.

Das Ergebnis der Berechnungen läßt sich in der folgenden Tafel zusammenfassen, wobei in die Untersuchung die gewaschenen und die lysierten Thrombocyten einbezogen wurden.

Variationsursache	SQ	FG	MQ
Gravidität	6258,8895	3	2086,2965
Aufbereitung	521,2896	1	521,2896
Wechselwirkung	13,8517	3	4,6172
in.der Gruppen	383,7636	206	1,8629
gesamt	7177,7944	214	

Tabelle 10

Als Variationsursachen kommen in Betracht:

- a. der Einfluß der Gravidität
- b. die Aufbereitung der Thrombocyten
- c. die ungleiche Auswirkung einer Schwangerschaft auf ein verändertes Verhalten der Thrombocyten bei der Aufbereitung
- d. der Versuchsfehler

Um die entsprechenden Hypothesen zu prüfen, werden Qotienten aus den MQ gebildet, die der F-Verteilung folgen. Für die Prüfungen wird $\alpha = 0,01$ vereinbart.

- a.) Für die Variabilität zwischen Graviden und Nichtschwangeren gilt $F = \frac{2086,2965}{4,6172} = 451,85$

Da dieser Wert weit über $F_{(0,01 : 3, 3)} = 29,48$ liegt, ist ein erheblicher Einfluß der Schwangerschaft auf die Restplasminaktivitätsänderung anzunehmen.

- b.) Die Unterschiede der Aufbereitung werden geprüft mittels

$$F = \frac{521,2896}{4,6172} = 112,90$$

und verglichen mit $F_{(0,01 : 1,3)} = 34,12$, womit auch die Variabilität zwischen den Aufbereitungsarten hoch gesichert ist.

- c.) Die Prüfung der Wechselwirkung erfolgt nach

$$F = \frac{4,6172}{1,8629} = 2,48$$

und wird verglichen mit $F_{(0,01 : 3,206)} = 3,88$.

Demnach ist eine Wechselwirkung nicht zu sichern. Eine Auswirkung der Graviditätsvorgänge auf ein verändertes Verhalten der Thrombocyten, das durch die Aufbereitung festzustellen wäre, ist demnach nicht vorhanden.

- d.) Die Größe des sogenannten Restes weist ebenfalls auf ein Fehlen der Wechselwirkung hin und bestätigt weiterhin die Annahme eines relativ geringen Versuchsfehlers.

Es verbleibt, die Zulässigkeit der Varianzanalyse anhand des BARTLETT-testes zu prüfen. Die Testgröße berechnet sich demnach zu

$$x^2 = 8,46$$

worin bei 7 Freiheitsgraden ein $P = 30\%$ gehört. Die Unterschiede zwischen den Gruppenvarianzen sind demnach lediglich Zufallsunterschiede. Die Variananalyse darf vorgenommen werden.

Die Prüfung der Mittelwertsdifferenzen erfolgt mittels eines nach KRAMER modifizierten Rangtestes, der sich am DUNCAN-test orientiert. Die Prüfgröße errechnet sich aus dem Produkt der zu prüfenden Mittelwerts-

differenzen und der Wurzel aus den Stichprobenumfängen dieser Differenzen und wird gegen die analog dem DUNCAN-verfahren genommene Variationabreite geprüft.

Demnach läßt sich folgende Tabelle der Differenzen der Mittelwerte aufstellen, in der die nicht signifikanten Unterschiede unterstrichen sind. Die Irrtumswahrscheinlichkeit ist mit $\alpha = 0,01$ festgelegt. Verglichen werden die G uppen a und c der Aufbereitungsarten.

$\bar{x}_i$	37,03	30,80	27,97	27,90	26,95	25,00	24,94
40,00	2,93	9,20	12,03	12,10	13,05	15,00	15,06
37,03		2,33	9,06	9,13	10,08	12,03	12,09
30,80			2,83	2,90	3,85	5,80	5,86
27,97				<u>0,07</u>	1,02	2,97	3,03
27,90					0,95	2,90	2,96
26,95						1,95	2,96
25,00							<u>0,06</u>

$$S_0 = 1,36 \quad FG = 206$$

Tabelle 11

Demnach läßt sich feststellen, daß lediglich die Mittelwerte zwischen den Gruppen c der Kontrollgruppe und der Gruppe der Schwangeren im 1. Trimenon, sowie die entsprechenden Werte in der Gruppe a nicht significant voneinander abweichen.

4.2.4 Hier vergleichen wir Schwangere des 2. Trimenon mit der Kontrollgruppe. Wir verzichten auf varianzanalytische Behandlung des Problems, da klar definierbare Variabilitätsursachen wegen der Komplexität des geburts-hilflichen Geschehens nicht vorauszusetzen sind. Wir beschränken uns deshalb auf t-Teste. Außerdem vergleichen wir Entbundene mit der Kontrollgruppe (b und c-Gruppe)

Differenzen	FG	$t_{\text{berechn.}}$	$t_{0,01}$	Urteil
$\Delta (\bar{x}_{\text{Eb}} - \bar{x}_{\text{Grav.b}})$ 40,00-29,00	68	32,0703	2,382	significant
$\Delta (\bar{x}_{\text{Ec}} - \bar{x}_{\text{Grav.c}})$	68	35,5774	2,382	significant
$\Delta (\bar{x}_{\text{Eb}} - \bar{x}_{\text{KGb}})$ 27,97-29,00	65	3,0441	2,385	significant
$\Delta (\bar{x}_{\text{Ec}} - \bar{x}_{\text{KGc}})$	64	0,4256	2,386	nicht significant

Tabelle 12

Die Beobachtung, daß bei den entbundenen Frauen der lysierbare Anteil an Restplasminaktivität schnell zur Norm zurückkehrt, ist von Wichtigkeit.

4.2.5 Wir vergleichen nun Gravide des 3. Trimenon mit EPH-gestosepatientinnen. Auch hier erfolgt der Vergleich mit den Werten der Gruppen b und c.

$\Delta (\bar{x}_{\text{EPHb}} - \bar{x}_{\text{Grav.b}})$ 40,87-40,00	63	2,0430	2,387	nicht significant
$\Delta (\bar{x}_{\text{EPHc}} - \bar{x}_{\text{Grav.c}})$ 37,03-37,00	63	0,077	2,387	nicht significant

Tabelle 13

7.0.0 Diskussion

7.1.0 Diskussion der Methode

1. Der Isoliervorgang

Eine entscheidende Voraussetzung für eine genaue quantitative Analyse der Blutplättchen-antiplasminbestimmung ist die schonende Isolierung der Thrombocyten. Am Ende dieses Thrombocyten-isoliervorganges soll die Gewinnung von intakten Blutplättchen ohne Spontanagglutination stehen.

Diese Voraussetzung ist gegeben durch die Arbeiten von HITZIG, FISCHER und LANDBECK, die eine exakte Methode zur Thrombocytenisolierung beschreiben (37, 38).

Die angegebene Lösung führt erstens durch ihre Kollidonkomponente zu einer Verklumpung und somit schneller Sedimentierung der Erythrocyten, was durch Zentrifugieren unmittelbar nach der Blutentnahme noch schneller erreicht wird. Zweitens verhindert Titriplex III durch Bindung der Kalzium-ionen die Gerinnung wie auch die Alteration und Agglomeration der Blutplättchen. Drittens wird zur Erhöhung der Oberflächenspannung Tween 80 bei der Blutgewinnung hinzugegeben.

Diese Methode erweist sich den nach der Originalmethode aus Zitratplasma hergestellten Aufschwemmungen überlegen. Es werden zwei wesentliche Fehlerquellen ausgeschaltet:

1. die unkontrollierte und damit unbekannte Thrombocytenzahl
2. die Verwendung von zerstörten oder gar lysierten Blutplättchen

7.1.2 Die Antiplasminaktivitätsmessung

MARBET, ELSNER et all. geben Methoden zur Antiplasminbestimmung im Plasma an; Methoden, die man auch zur Bestimmung des Thrombocyten-antiplasmin heranziehen kann.

Eine genauere Bestimmung der Antiplasminaktivität der Blutplättchen ist jedoch gegeben durch die Arbeit von MORIAU und de VRIES, die eine Methode zur Bestimmung des Thrombocytenantiplasmin beschreiben (39).

Der Vorteil dieser Methode im Gegensatz zu den Arbeiten von MARBET, ELSNER, ALKJAERSIG, GUEST liegt erstens in der Verwendung von hochgereinigtem Plasmin als Substrat und zweitens in der exakteren Beurteilung der Lysezeit. Man gelangt hier zu einem hochgereinigten Substrat, das keinen Veränderungen unterliegt. Die Voraussetzungen sind für jeden Versuch die gleichen, die einzig Unbekannte und Veränderliche ist die zu bestimmende Lösung.

7.1.3 Der Waschvorgang

Die quantitative Bestimmung des Thrombocytenantiplasmin mit a. gewaschenen b. ungewaschenen Thrombocyten setzt eine genaue Waschung derselben voraus. Die von JAEGER, DRAAFSEL (48) angegebene Lösung erlaubt eine gründliche und zugleich schonende Waschung der Thrombocyten. Die mehrmalige Wiederholung des Vorganges gewährleistet eine sichere Trennung der Plättchen von lockeren Plasmapbestandteilen.

7.2.0 Diskussion der Ergebnisse

1. Projektion der Ergebnisse auf das Gesamtverhalten der Gerinnung in der Gravidität

1953 haben JOHNSON und SCHNEIDER (4) aus Plättchenanreicherungen ein Antiplasmin gewonnen, das ca. siebenzig Prozent der gesamten plasmatischen Antiplasminaktivität ausmacht.

EISNER (17) stellte fest, daß das Plasmaantiplasmin bei Schwangeren des zweiten und dritten Trimesters abfalle.

Die vorliegenden Untersuchungen über das Verhalten des Thrombocytenantiplasmin zeigen eine gleichartige Tendenz; einen Abfall des Thrombocyten-antiplasmin im Verlaufe der Schwangerschaft.

Die gefundenen Werte zeigen, daß im Verlaufe der Schwangerschaft eine Verminderung des Thrombocytenantiplasmingehaltes stattfindet, die gegen Ende der Schwangerschaft ihren Höhepunkt erreicht. Das bedeutet, daß die fibrinolytische Aktivität des menschlichen Blutes gegen Schwangerschaftsende eine Steigerung erfährt, bedingt unter anderem durch eine Verminderung des Thrombocytenantiplasmin.

Es ist bekannt, daß in den ersten zwei Schwangerschaftsmonaten die Gerinnungstendenz des Blutes zunimmt, um während der Geburt außerordentlich intensiv zu werden. Diese partuale Steigerung der spontanen Blutgerinnung steht offenbar mit den Bedürfnissen der uterinen Blutstillung im Zusammenhang. Im Wochenbett normalisiert sich diese Tendenz wieder.

Es ist aber auch bekannt, daß in den ersten Schwangerschaftswochen die Blutfibrinolyse, genau wie die Blutgerinnung, eine gewisse Intensivierung zeigt. (42)

Teleologisch interpretiert ist der biologische Sinn der gestationsbedingten Fibrinolysesteigerung demnach die Aufrechterhaltung des Gleichgewichtes gegenüber der in dieser Zeit ebenfalls erhöhten Gerinnungstendenz des Blutes.

Die vorliegenden Untersuchungen fügen sich somit in das Gleichgewichtsschema: die Thrombocytenantiplasminaktivität nimmt im Verlaufe der Schwangerschaft kontinuierlich ab. Entweder wird vermehrt Antiplasmin verbraucht oder in geringerem Maße produziert. Daraus resultiert eine verminderte Hemmwirkung auf das Plasmin und somit auf die fibrinolytische Aktivität des Blutes, die als Resultante auf die erhöhte Gerinnungstendenz zur Aufrechterhaltung der Eukoagibilität (LÜSCHER) notwendig ist.

7.2 2 die Untersuchungen zeigen ferner, daß zwischen der Antiplasminaktivität der Normalpersonen (Kontrollgruppe) und der Antiplasminaktivität der Entbundenen keine signifikanten Unterschiede bestehen. Die Ausgangswerte werden kurze Zeit nach der Entbindung wieder erreicht.

Es ist bekannt, daß sowohl die Fibrinolysefaktoren wie auch die antifibrinolytischen Systeme nach Geburt rasch ihre Normalwerte wieder erreichen. Auch hier fügen sich die Untersuchungen ein: Der Antiplasmingehalt der menschlichen Thrombocyten macht keine Ausnahme in der Balance des Prozesses Gerinnungs-Fibrinolyse.

7.2.3

Die Werte, die bei EPH-gestose-patientinnen des dritten Schwangerschaftstrimenon gefunden wurden, zeigen keine Abweichungen gegenüber der Schwangerengruppe des dritten

Trimenon, die nicht an einer EPH-gestose erkrankt waren. Die EPH-gestose hat also nach diesen Untersuchungen keinen Einfluß auf die Thrombocytenantiplasmin-aktivität und führt also zumindest nicht über diesen Faktor zu einer Verschiebung des Gleichgewichtes im Sinne einer Hyper- oder Hypo-koagubilität des Blutes. Die dennoch häufig beobachtete Hyperkoagubilität ist nach KUHN, GRAEF und WEILAND wahrscheinlich auf Änderungen der plasmatischen Gerinnungsfaktoren zurückzuführen.

7.2.4 Der Einfluß von Ovulationshemmern auf das Gerinnungsgeschehen und insbesondere auf das thrombocytäre Antiplasmin

Es ist recht lebhaft über einen Kausalzusammenhang zwischen thrombembolischen Geschehen und oralen Ovulationshemmern diskutiert worden.

1962 wurden in England die ersten Todesfälle beschrieben, die den Ovulationshemmern zur Last gelegt und auf thrombembolische Erkrankungen zurückgeführt wurden. Statistische Untersuchungen unter der Leitung von KIRCHHOFF in Zusammenarbeit mit 600 Ärzten in der Bundesrepublik im Jahre 1963 ergaben eine signifikant erhöhte Thrombophlebitisfrequenz bei der Einnahme von Ovulationshemmern.

INMAN und VESSY in Zusammenarbeit mit dem "Committee of safety of drugs" haben statistisch alle Todesfälle im Jahre 1966/67 in England ausgewertet, bei denen Frauen zwischen 20 und 44 Jahren, die unter Ovulationshemmern standen, an Thrombosen, Lungenembolien und Zerebralthrombosen starben. (47) Demnach ist die Wahrscheinlichkeit, an Lungenembolie oder cerebraler Thrombose zu sterben, unter der Einnahme von Ovulationshemmern auf das Sieben- bis Acht-fache erhöht. 1963 haben Unter-

suchungen von KIRCHHOFF und POLIWODA (47) im Gerinnungs- und fibrinolytischen System Veränderungen im Sinne einer Hyperkoagulabilität und eines erhöhten fibrinolytischen Potentials nachgewiesen. Nachweisbar ist eine Verkürzung im Heparintoleranztest, in der t-zeit des Thrombelastogramms, eine Zunahme des Fibrinogen, der Faktoren VII, IX und X. Im fibrinolytischen System kommt es zu einem Anstieg des Plasminogen bei unveränderten Antiplasminwerten.

Bei alleiniger Anwendung der Oestrogenkomponente zeigen sich die deutlichsten Veränderungen im Gerinnungssystem, während bei alleiniger Anwendung der gestagenen Komponente die Veränderungen fehlen oder sehr gering sind (47).

Im April 1960 sind von INMAN und VESSY dem britischen "Committee of safety of drugs" Untersuchungsergebnisse mitgeteilt worden, aus denen hervorgeht, daß hohe Oestrogendosen mit einer unerwartet hohen Thrombemboliefrequenz vergesellschaftet waren (45).

CASPARY et al. fanden eine leichte Erhöhung der Plättchenzahl unter der Einnahme von Ovulationshemmern; jedoch haben Untersuchungen u.a. von KIRCHHOFF diese Erhöhungen nicht gefunden. (46)

Diese zitierten Befunde unter oralen Ovulationshemmern stimmen mit denen von PIEKNY im letzten Schwangerschaftstrimenon erhobenen Werten überein (50).

Es finden sich demnach in der Gravidität und unter der Einnahme von oralen Ovulationshemmern im Prinzip gleichsinnige Veränderungen, sowohl im plasmatischen Gerinnungssystem wie beim Plättchenaggregationstest.

Bei der vorgelegten Untersuchung über das Verhalten des Thrombocyten-antiplasmin bei normaler und pathologischer Gestation und bei Patientinnen im Alter von 20 bis

30 Jahren, die regelmäßig Ovulationshemmer mit hoher oestrogener und gestagener Potenz einnahmen, findet sich eine Übereinstimmung mit den von KIRCHHOFF und POLIWODA angestellten Untersuchungen.

Es finden sich bei diesem Kollektiv Werte, die den Plasmarestaktivitätswerten der Schwangerengruppe des zweiten Trimenon vergleichbar sind. Auch während der Einnahme von hormonellen Kontrazeptiva kommt es zu einer Verminderung des Thrombocytenantiplasmingehaltes und damit zu einer Erhöhung des fibrinolytischen Potentials. Wenn also Ovulationshemmer ähnliche Auswirkungen wie die Schwangerschaft auf die Thrombocytenantiplasminaktivität zeigen, liegt der Schluß nahe, daß diese Veränderungen durch hormonelle Einflüsse induziert werden.

Manche Autoren (43) schreiben der Oestrogenkomponente die alleinige Schuld an den Veränderungen im Gerinnungssystem zu. Eine genaue Antwort auf die Frage der hormonellen Beeinflussung der Antiplasminaktivität kann hier zwar nicht gegeben werden, jedoch liegt die Vermutung nahe, daß über die Hormone auch ein Einfluß auf den Antiplasmingehalt der menschlichen Blutplättchen ausgeübt wird.

7.2.5

Die fast direkten Beziehungen zwischen plasmatischem und thrombocytärem Antiplasmin könnten den Vermutungen einiger Autoren, daß es sich bei dem Thrombocytenantiplasmin um einen "endogenen" Faktor handle, entgegenstehen.

Als Hinweis auf die endogene Art des Plättchenantiplasmin geben die Autoren JOHNSON und SCHNEIDER an, eine Zerstückelung der Plättchen habe eine Erhöhung der Thrombocytenantiplasminaktivität zur Folge (4).

GROSS und HOLEMANS haben vergleichend die fibrinolytische und antifibrinolytische Aktivität der Thrombocyten untersucht. Nach ihren Angaben ist der Antiplasmingehalt nicht auswaschbar (34).

Aus diesen Gründen wurde in den eigenen Untersuchungen die Aktivität der ungewaschenen, gewaschenen und ly-sierten Thrombocyten gemessen. Durch die sehr schonende, jedoch gründliche Waschung war die Gewähr gegeben, daß an der Oberfläche locker haftende Plasmanbestandteile nicht zu erwarten waren. Nach der statistischen Auswertung des Materials zeigte sich eine leichte Abnahme der Plasminrestaktivität, das heißt eine Erhöhung der Antiplasminaktivität.

Dieser Befund legt die schon von JOHNSON geäußerte Vermutung nahe, daß es sich bei dem thrombocytären Antiplasmin um einen endogenen, eng im Thrombocytengefüge verankerten Bestandteil der menschlichen Blutplättchen handelt. Ebenso wird die Auffassung von GROSS und HOLEMANS bestätigt, daß der Antiplasminanteil der menschlichen Blutplättchen nicht auswaschbar sei.

Auch GROSS und HOLEMANS (34) äußerten die Ansicht, daß die Adsorption des Antiplasminanteils der menschlichen Blutplättchen unwahrscheinlich sei.

Sogar ein Erhitzen der Thrombocyten für fünfzehn Minuten auf 80 Grad Celsius konnte die Antiplasminaktivität nicht senken. Es wird sogar eine Zunahme nach dieser Behandlung festgestellt (34).

8.0.0 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird über das Verhalten des Thrombocytenantiplasmin im Verlaufe von Schwangerschaft und Geburt berichtet. Ferner werden die Antiplasmin-aktivitäten der Blutplättchen bei Patientinnen mit EPH-gestose vor und nach der Geburt erstellt.

Die nach speziellen Verfahren vorgenommene schonende Behandlung der Plättchen erlaubt eine sichere Isolierung. Die Bestimmung der Thrombocyten-antiplasminaktivität erfolgt nach dem Prinzip der Lysezeitbestimmung eines standardisierten Blutgerinnsels.

Es zeigt sich, daß die Thrombocytenantiplasminaktivität im Verlaufe der Schwangerschaft abfällt. Sie erreicht zum Zeitpunkt der Geburt ihren niedrigsten Wert und steigt in kurzer Zeit wieder auf normale Werte. Die Ausgangswerte werden am zweiten Tag post partum wieder erreicht.

Ebenso ist die Thrombocytenantiplasminaktivität bei Spätgestosepatientinnen herabgesetzt, jedoch nicht signifikant gegenüber gesunden Graviden. Auch diese Werte erreichen die Ausgangshöhe am zweiten Tag post partum.

Außerdem werden die Thrombocyten vor der Bestimmung der Antiplasmin-aktivität nach verschiedenen Methoden aufbereitet, um möglicherweise einen Anhalt für die Herkunft des Plättchenantiplasmin zu erhalten.

Die Antiplasmin-werte werden bei ungewaschenen, gewaschenen und bei mechanisch-thermisch zerstörten Thrombocyten bestimmt. Es zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den Werten dieser drei Gruppen. Die Tatsache, daß sich nach verschiedener Behandlung klare Aktivitätsunterschiede ergeben, stützt die Auffassung, daß es sich bei dem Thrombocyten-antiplasmin um einen sogenannten "endogenen" Faktor handelt.

9.0.0 Literatur

1. Astrup,T.;J.Sterndorff :
Nature 170(1952), 981
2. Jacobson,B.M. : A.M.A. Arch.
Intern.Med. 92(1953),471
3. Sherry,S.;N.Alkyaersig :
J.clin. Invest. 35(1956), 735
4. Johnson,S.A.;C.L.Schneider :
Science 117(1953), 229
5. Sherry,S.;N.Alkyaersig :
Thrombos.Diathes.haemorrh.
1(1957), 264
6. Rosenmann,M.;L. Braun :
Zbl.Gynäk. 46(1922), 766
7. von Kaulla,K.N.;L.B.Shettles :
Klin.Wschr. 32(1954), 468
8. Dillard,G.H.L. : J.Lab.clin.Med.
36(1950), 266
9. Shullman,N. : J.biol.chem. 213(1955), 655
10. Kunitz,M.;J.H.Northrop :
J.gen.Physiol. 19(1936), 991
11. Kazal,L.A.;D.S.Spicer :
R.A. Brahinsky : J.Amer.chem.Soc.
70(1948), 3034
12. Lewis,J.H.;J.H.Ferguson :
J.clin.Invest. 29(1950), 486

13. Deutsch,E. : Ergebn.inn.Med.Kinderheilk.N.F.
5 (1954), 553
14. Deutsch,E. : Blutgerinnungsfaktoren
Franz Deuticke Wien 1955
15. Guest,M.M.;B.Daily;
B.Ware;W.H.Seegers : J.clin.Invest.
27(1948), 793
16. Clark,D.G.;E.E.Cliffton;
B.L.Newton : Proc.sec.exp.biol.med.
69(1948), 279
17. Elsner,P. : Fortschr.Geburtsh.Gynäk.
6(1957), 1
18. Kocholaty,W.;E.Ellis;
H.Jensen :Blood 7(1952), 882
19. Rathoff,O. : Bull.John Hopkins Hosp.
83(1949), 29
20. Fearnley,G.R. : Lancet 270(1956),450
21. Kwaan,H.C.;A.J.MacFadzean;
J.Cook : Lancet 270(1956), 132
22. Christensen,L.R.;MacLeod,C.M.:
J.gen.Phys. 28(1945), 559
23. Shulman,N.R. : J.biol.Chem. 213(1955), 655
24. Dillard,G.H.;A.Chanutin :
Advanc.Cancer Res. 9(1949),665

25. Cliffton, E.E.; L.E. Young :
Cancer 3(1950), 486
26. Cliffton, E.E. : J.Lab.clin.Med.
39(1952), 105
27. von Kaulla, K.N. : Amer.J.clin.Path.
29 (1958), 104
28. Marbet, R. : Arch.Gynäk. 189(1956), 522
29. Beller, F.K.; U.Reinhardt :
H.Stamm Klinik der Fibrinolyse
S.Karger Basel 1962
30. Jürgens, R. : Dtsch.med.Wschr. 77(1952), 1265
31. vanCrefeld, S.; H.A.Veder :
Nederl.Tijdschr.geneeske
99 (1953), 2882
32. Stefanini, M.; J.S.Murphey :
J.clin.Invest. 35 (1956), 355
33. Bierstedt, P. : Ztschr.Exp.Med. 129(1957), 164
34. Gross, R.; R.Holemans :
Klin.Wschr. 38(1960), 999
35. Alkyaersig, N. : The antifibrinolytic
activity of platelets
Boston, Brown and Co. 1961
36. Loomis, E.C.; A.Ryder;
C.George : Arch.Biochem. 20(1949), 444

37. Fischer, K.; G. Landbeck :
Klin. Wschr. 37(1959), 562
38. Hitzig, H. : Schweiz. med. Wschr.
84(1954), 1126
39. Moriau, M.; S. J. de Vries;
H. J. Dik : Thrombos. Diathes. haemorrh.
8(1963), 355
40. de Vries, S. J. ;
M. A. J. Braat van Straaten;
E. Müller : Thrombos. Diathes. haemorrh.
6(1961), 445
41. Seegers, W. H.; N. Nieff;
J. M. Vandenbelt : Arch. Biochem. Biophys.
7(1945), 15
42. Christensen, L. R.; M. MacCarty:
The streptokinase plasminogen system
p. 39 Columbia Univ. Press. New York
1954
43. Ungar, G.; E. Damgaard;
F. P. Hummel : Endocrinology
49(1951), 805
44. Heinen, G. : Ztschr. Der praktische Arzt
12(1970), 357
45. Inman, W. H. V.; M. P. Vessey :
Brit. med. J. 1(1970), 203
46. Kirchhoff, H.; J. Haller :
Med. Klin. 59(1964), 588

47. Inman, W.H.V.; M.P. Vessey :
Brit.med.J. 2(1968), 1963
48. Jaeger-Draafsel, E.;
D. Wiegmann : vox sang. 1 (1958), 78
49. Schulz, H.; E. Hiepler :
Klin.Wschr. 37(1959), 273
50. Haller, J. : Ovulationshemmung durch
Hormone G. Thieme Stuttgart
1968
51. Fischer, M. : Wien.Ztschr.Inn.Med.
47(1966), 143

Lebenslauf

Am 9. März 1945 wurde ich, Bernd-Michael Heiny, als Sohn des Kaufmanns Gerhard Heiny und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Bautz, in Naumburg an der Saale geboren. Meine Grundschul- und Gymnasial-jahre verbrachte ich in Kassel, wo ich 1964 mein Abitur am staatlichen Friedrichs-gymnasium ablegte. Danach leistete ich meinen Grundwehr-dienst bei der Marine ab. Im Sommersemester 1975 begann mein Medizinstudium an der Universität Giessen, das ich mit Erfolg im Januar 1971 abschloss. Danach Arbeit als Medizinalassistent und Assistent in Kassel, wo ich auch zur Zeit als Assistenzarzt tätig bin.

